

态观察,该方案的接种时间点是 0、7、21 天,没有 3 天的接种时间点,没办法对 0、3 天各接种一个剂量的对比研究。本课题后续研究工作将进行对含有 0、3 天疫苗接种点的 5 针法接种人群的初种与复种者免疫效果对比研究,从而为人们对狂犬病疫苗的接种效果提供更广泛的认识。

参考文献

- 1 Zhang J, Jin Z, Sun GQ, et al. Analysis of rabies in China: transmission dynamics and control [J]. PLoS One, 2011, 6(7): e20891
- 2 Harshal S, Sanjeev K, Rizwan SA, et al. Feasibility of sustainable provision of intradermal post exposure prophylaxis against rabies at primary care level – evidence from rural Haryana [J]. BMC Health Services Research, 2014, 14(1): 278
- 3 卫生部,公安部,农业部,国家食品药品监督管理局.中国狂犬病防治现状[R].卫生部公报 2009.11,卫疾控发[2009]92 号[R].2009
- 4 Willoughby RE, Tieves KS, Hoffman GM, et al. Survival after Treatment of Rabies with Induction of Coma [J]. N Engl J Med, 2005, 352(24): 2508–2514
- 5 Younas MZ, Qasim M, Zia S, et al. Rabies molecular virology, diagnosis, prevention and treatment [J]. Virol J, 2012, 9(1): 50
- 6 Deborah JB. The role of vaccination in rabies prevention [J]. Curr Opin Virol, 2012, 2(3): 309–314
- 7 Henry W. Rabies Postexposure vaccination: are antibody responses ad-
- equate [J]. Clin Infect Dis, 2012, 55(2): 206–208
- 8 Muhamuda K, Madhusudana SN, Ravi V. Development and evaluation of a competitive ELISA for estimation of rabies neutralizing antibodies after post-exposure rabies vaccination in humans [J]. Int J Infect Dis, 2007, 11(5): 441–445
- 9 Feyssaguet M, Dacheux L, Audry L, et al. Multicenter comparative study of a new ELISA, PLATELIA RABIES II, for the detection and titration of anti-rabies glycoprotein antibodies and comparison with the rapid fluorescent focus inhibition test (RFFIT) on human samples from vaccinated and non-vaccinated people [J]. Vaccine, 2007, 25(12): 2244–2251
- 10 徐葛林,吴杰,吴泰才,等.多种方法对广西地区健康犬带狂犬病毒的调查[J].中国人兽共患病杂志,1999,15(3):108–109
- 11 Wang LY, Sun MP, Zhang XC, et al. Safety and immunogenicity of two freeze-dried Vero cell rabies vaccines for human use in post-exposure prophylaxis [J]. Vaccine, 2011, 29(15): 2679–2681
- 12 Yanagisawa N, Takayama N, Mannen K, et al. Immunogenicity of intradermal vaccination of Japanese rabies vaccine for preexposure immunization following WHO recommendation [J]. J Infect Chemother, 2012, 18(1): 66–68
- 13 Kulkarni PS, Sapru A, D'costa PM, et al. Safety and immunogenicity of a new purified vero cell rabies vaccine (PVRV) administered by intramuscular and intradermal routes in healthy volunteers [J]. Vaccine, 2013, 31(24): 2719–2722 (收稿日期:2014-12-04)

(修回日期:2014-12-27)

KD 患儿血清对细胞活力及 NF-κB 表达的影响和 PDTc 的干预

薛超超 李丰 仇慧仙 陈其 张园海

摘要 目的 研究川崎病(KD)患儿血清对人脐静脉内皮细胞(HUVEC)细胞活力及核转录因子-κB(NF-κB)表达的影响,探讨 KD 及其并发症的发病机制。观察吡咯烷二硫氨基甲酸酯(PDTc)干预下 HUVEC 细胞活力及 NF-κB 表达的变化,探讨 PDTc 的作用机制和潜在的临床应用价值。**方法** 根据不同的干预方法将培养的细胞分成 4 组:N 组: RPMI1640 培养基+正常儿童血清,K 组: RPMI1640 培养基+KD 患儿血清,G 组: RPMI1640 培养基+KD 患儿血清+IVIG;P 组: RPMI1640 培养基+KD 患儿血清+PDTc。细胞培养 24h 后,MTT 法检测细胞活力,RT-PCR 法检测细胞内 NF-κB p65mRNA 的表达,Western blot 法检测细胞核内 NF-κB p65 蛋白的合成。**结果** K 组 HUVEC 增殖受限,细胞活力较 N 组显著下降($P < 0.05$),NF-κB p65mRNA、NF-κB p65 蛋白表达较 N 组显著升高($P < 0.05$);G 组与 P 组细胞活力较 K 组显著增强($P < 0.05$),NF-κB p65mRNA、NF-κB p65 蛋白表达均较 K 组显著降低。**结论** KD 患儿血清能促使细胞内 NF-κB 信号通路过度激活,导致细胞自身损伤,推测与 KD 的发生、发展密切相关。PDTc 能有效抑制细胞内 NF-κB 信号通路,对细胞起保护作用,在 KD 的治疗上有潜在的临床价值。

关键词 川崎病 核因子 人脐静脉内皮细胞 吡咯烷二硫氨基甲酸酯

中图分类号 R72

文献标识码 A

DOI 10.11969/j.issn.1673-548X.2015.07.024

基金项目:浙江省医药卫生科技计划项目(201478482)

作者单位:325027 温州医科大学附属育英儿童医院

通讯作者:张园海,主任医师,电子信箱:cxc414@126.com

Effects of Serum from KD Patients on HUVEC viability and Expression of NF- κ B and the Intervention of PDTC. Xue Chaochao, Li Feng, Qiu Huixian, et al. Yuying Children's Hospital of Wenzhou Medical University, Zhejiang 325027, China

Abstract Objective To investigate the influence on the viability of human umbilical vein endothelial cell (HUVEC) and its expression of NF- κ B stimulated by serum from Kawasaki disease (KD) patients, and discuss the possible pathogenesis of KD and its complications. To observe the intervention effect of Pyrrolidine dithiocarbamate (PDTC) on the cell viability and the expression of NF- κ B to explore its mechanism and potential clinical value. **Methods** HUVECs were divided into 4 groups, and each group was given different interfere respectively as following: Group N (RPMI-1640 medium + normal serum); Group K (RPMI-1640 medium + KD serum); Group G (RPMI-1640 medium + KD serum + IVIG); Group P (RPMI-1640 medium + KD serum + PDTC). The cells in each group were cultured for 24 hours before cell viabilities were tested by MTT. The expressions of NF- κ B p65mRNA were measured by RT-PCR and the expressions of the NF- κ B p65 protein by Western blot. **Results** The cell growth in Group K was inhibited, and its viability was significantly lower than that in Group N ($P < 0.05$). The expressions of NF- κ B p65mRNA and NF- κ B p65 protein in Group K were both significantly higher than that in Group N ($P < 0.05$). The viabilities of cells in Group G and P both increased significantly than those in Group K ($P < 0.05$). The expressions of NF- κ B p65mRNA and NF- κ B p65 protein in Group G and P were all much lower than those in Group K ($P < 0.05$). **Conclusion** KD serum can make NF- κ B signaling pathway excessive express and lead to cell-self lesion, which may play an important role on the pathogenesis of KD. PDTC can effectively inhibit NF- κ B signaling pathway excessive expression and protect the cell, which indicates it has potential clinical value for KD.

Key words Kawasaki disease; NF- κ B; HUVEC; PDTC

川崎病(Kawasaki disease, KD)是一种以全身中小血管炎为主要病变的儿童急性发热出疹性疾病,主要并发症是冠状动脉损害,可表现为冠脉扩张或者冠脉瘤^[1]。近年来越来越引起儿科医师重视。遗憾的是至今未能建立公认稳定的KD动物模型,研究多基于临床或体外细胞实验。虽然发病机制仍不完全清楚,但必然存在免疫系统的异常激活与炎性反应的过度扩大^[2]。核因子- κ B(NF- κ B)是一种具有基因转录功能的多项调控转录因子,在体内炎性反应过程中起到核心作用,能促发下游炎性连锁反应,所有炎症相关性疾病中几乎均能发现该通路的异常激活^[3~6]。那么与冠脉病变密切相关的血管内皮细胞,其细胞内的NF- κ B信号通路能否在KD患儿血清刺激下是否被过度激活,进而过度分泌各种细胞因子和炎性因子,造成细胞自身损害呢?如果给予NF- κ B信号通路的抑制剂对该通路进行阻断,能否减轻血管内皮细胞的自身损害?为证实这些猜想,笔者做了相关实验研究,现报道如下。

资料与方法

1. 研究对象:2012年7月~2013年6月温州医科大学附属育英儿童医院儿童心血管科住院治疗的KD急性期患儿30例,KD诊断标准符合2004年美国儿科学会和心脏病学会制定的KD诊断标准^[1]。病程均在1周以内,未经过IVIG治疗,排除其他免疫缺陷或者其他基础疾病。其中男性18例,女性12例,患儿年龄3个月~4岁,平均年龄 2.3 ± 1.4 岁。对照组为同期在笔者医院儿童保健科体检患儿30例,其中,男性16例,女性14例,患儿年龄3个月~4岁,平均年龄 $2.56 \pm$

2.22 岁,检查证实肝肾心功能正常,无基础心血管疾病,无感染性疾病依据。

2. 标本采集:抽取KD患儿及对照儿童外周静脉血2ml,EDTA-K2抗凝,1500r/min离心5min,收集上清液,-80℃冰箱保存。

3. 细胞培养与分组:HUEVC在RPMI1640培养液(含15%胎牛血清)中培养24h,观察细胞已贴壁,生长良好,控制密度约 1×10^6 /培养瓶。随机分成4组(每组设10个平行组):对照组(N组),KD血清组(K组),IVIG组(G组),PDTC组(P组),除去旧培养液,分别予不同的培养液继续培养(表1),24h后取出,用于下一步实验。

表1 各组培养液及干预情况($\bar{x} \pm s$)

分组	培养液及药物干预
对照组(N组)	RPMI1640培养基+15%正常儿童血清
KD血清组(K组)	RPMI1640培养基+15%KD患儿血清
IVIG组(G组)	RPMI1640培养基+15%KD血清+IVIG(10g/L)
PDTC组(P组)	RPMI1640培养基+15%KD血清+PDTC(100 μ mol/L)

4. MTT检测细胞活力:取培养瓶中的HUEVC,调整细胞浓度为 1×10^5 /ml,接种于96孔板,每孔加入100 μ l细胞悬液,放入培养箱孵育24h,按实验的4组给与不同的处理,每组设5个平行孔,继续培养24h。然后每孔加5mg/mlMTT20 μ l,继续培养4h,每孔加入二甲基亚砜(DMSO)100 μ l,震荡10min,使晶体完全溶解,酶联免疫仪在波长490nm处读取吸光度的A值。

5. RT-PCR检测NF- κ B p65mRNA的表达:通过检索GenBank数据库,利用Primer 5.0软件设计引物,由上海捷瑞生物工程有限公司合成,引物序列和预期PCR产物长度见表

2,用前稀释成 10pmol/ μ l。按 RNA 抽提试剂盒(Fermentas U.S.A)说明书进行 HUVEC 中 RNA 的提取, RNA 的反转录,然后放入 25 μ l 普通 PCR 反应体系进行 PCR 反应,反应条件见表 3,扩增完成后取 10 μ l PCR 扩增产物在 2% 的琼脂糖凝胶上电泳(120V,25~30min),紫外线灯下照相,用 GelPro31 软件测电泳条带的 IOD 比值。

表 2 引物序列和预期 PCR 产物长度

目的基因	引物序列(5'→3')	预期 PCR 产物 长度(bp)
NF- κ B p65	CATTGAGCAGCCCCAAGCAG GTCCCGCTTCTTCACACACTG	307
ACTB	CATTGCCGACAGGGATGCAG CTCGTCATACTCCTGCTTGCTG	169

表 3 目的基因的 PCR 反应条件

目的基因	变性	复性	延伸	循环次数
NF- κ B p65	94℃ 40s	60℃ 30s	72℃ 60s	35
ACTB	94℃ 40s	55℃ 30s	72℃ 60s	35

6. Western blot 法检测 HUVEC 胞核内 NF- κ B p65 蛋白的表达:按照碧云天核蛋白提取试剂盒说明书来提取 HUVEC 细胞核蛋白,BCA 法测蛋白浓度,制胶,各孔加入 100 μ g 蛋白样品电泳,转膜,5% 小牛血清封闭液封闭 1h,加兔抗单克隆抗体 NF- κ B p65 65kDa 一抗(1:500)和兔抗单克隆抗体 β -actin 45kDa(1:1000),4℃ 孵育过夜。TBST 洗膜 3 次,加辣根过氧化物酶(HRP)标记的羊抗兔二抗(1:5000)室温孵育 1h,TBST 洗膜 3 次,膜与化学发光检测试剂反应 5min,曝光。利用 Quantity One 凝胶分析软件测定条带的 IOD 比值。

7. 统计学方法:采用 SPSS 17.0 统计软件分析,全部数据进行正态性检验,计数资料均值用均值 \pm 标准差($\bar{x} \pm s$)表示,多组比较采用单因素方差分析(ANOVA),方差齐者两两之间比较采用 SNK-q 检验,以 $P < 0.05$ 为差异有统计学意义。

结 果

1. MTT 法检测各组 HUVEC 的细胞活力:各组 HUVEC 细胞活力的 A 值见表 4,图 1。结果显示:① KD 血清刺激下,HUVEC 的细胞活力较对照组显著降低($P < 0.05$);② 在丙种球蛋白或 PDTC 的干预下,HUVEC 的细胞活力较单纯 KD 血清刺激组均有显著升高,且两种干预措施组间比较细胞活力差异无统计学意义。

表 4 各组 HUVEC 活力的 A 值($\bar{x} \pm s$)

组别	n	A 值
N 组	10	0.612 \pm 0.036
K 组	10	0.325 \pm 0.054 *
G 组	10	0.576 \pm 0.047 #
P 组	10	0.516 \pm 0.032 *

与 N 组相比, * $P < 0.05$; 与 K 组相比, # $P < 0.05$

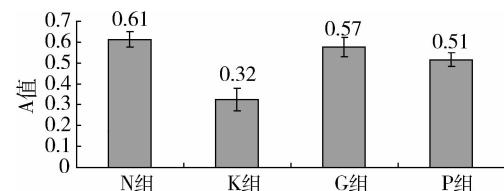
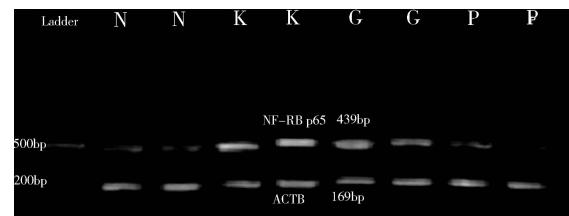


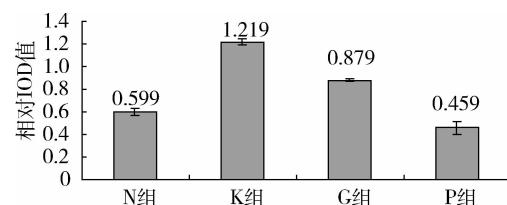
图 1 各组 HUVEC 细胞活力的 A 值比较

2. RT-PCR 检测各组 HUVEC 中 NF- κ B p65 mRNA 的表达:各组 HUVEC 的 NF- κ B p65 mRNA 电泳的灰度图(图 2)及累计光密度相对值(IOD)(表 5,图 3)。结果显示:① KD 血清刺激下,NF- κ B p65 mRNA 表达较对照组显著增加($P < 0.05$);② 在丙种球蛋白干预下,NF- κ B p65 mRNA 表达较单纯 KD 血清刺激组有下降趋势,但差异无统计学意义;③ 在 PDTC 的预下,KD 血清中 NF- κ B p65 mRNA 表达较单纯 KD 血清刺激组显著降低($P < 0.05$),且下降幅度较丙种球蛋白干预组显著($P < 0.05$)。

图 2 各组 NF- κ B p65 的电泳灰度表 5 各组 NF- κ B p65 mRNA 的相对 IOD 值($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NF- κ B p65 mRNA
N 组	10	0.599 \pm 0.033
K 组	10	1.219 \pm 0.024 △
G 组	10	0.879 \pm 0.012
P 组	10	0.459 \pm 0.060 ◇ *

与 N 组比较, △ $P < 0.05$; 与 K 组比较, ◇ $P < 0.05$; 与 G 组比较, * $P < 0.05$

图 3 各组 NF- κ B p65 mRNA 的相对 IOD 值比较

3. Western blot 法检测各组 NF- κ B p65 蛋白的相对表达:各组 HUVEC 胞核内的 NF- κ B p65 蛋白电泳灰度图(图 4)及相对 IOD 值表达(表 6,图 5)。

结果显示:① KD 血清刺激下, NF- κ B p65 蛋白的表达较对照组显著增加($P < 0.05$);② 在丙种球蛋白干预下,KD 血清中 NF- κ B p65 蛋白的表达较单纯 KD 血清刺激组有降低趋势,但差异无统计学意义;③ 在 PDTC 的预下,KD 血清中 NF- κ B p65 蛋白表达较单纯 KD 血清刺激组显著降低($P < 0.05$)。

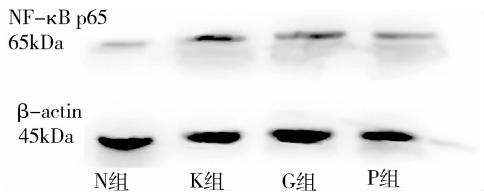


图 4 各组 HUVEC 中 NF- κ B p65、 β -actin 蛋白的灰度

表 6 各组 HUVEC 中 NF- κ B p65 蛋白的相对 IOD 值($\bar{x} \pm s$)

组别	n	NF- κ B p65 蛋白
N 组	10	0.195 ± 0.068
K 组	10	$0.526 \pm 0.128^\Delta$
G 组	10	$0.479 \pm 0.072^\Delta$
P 组	10	$0.172 \pm 0.135^\diamond$

与 N 组比较, $^\Delta P < 0.05$; 与 K 组比较, $^\diamond P < 0.05$

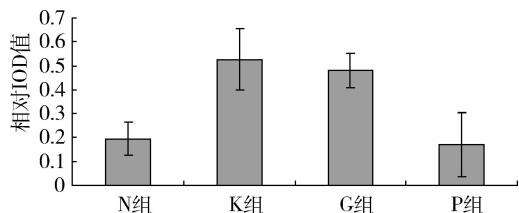


图 5 各组 HUVEC 中 NF- κ B p65 蛋白的相对 IOD 值比较

讨 论

川崎病临床主要表现为发热(>5天)、不规则皮疹、颈部淋巴结非化脓性肿大、眼结合膜炎、口唇皲裂、杨梅舌、掌(跖)红斑、手足硬性水肿等,最严重的并发症是冠状动脉损害(CAL),表现为冠脉扩张或者冠脉瘤^[1],即使急性期未观察到 CAL,成人期发生缺血性心脏病的危险性仍然增加^[7]。KD 的发病机制尚不完全清楚,但必然存在免疫系统的异常激活与炎性反应的过度扩大。目前国际上较为认可的假说是,某种或某类病原体感染特殊基因的敏感个体,发生免疫系统的异常激活与过度扩大的炎性反应,进而出现的一系列病理过程^[2]。所以寻找 KD 的炎性反应核心环节,对 KD 的发病机制和针对性治疗都有重要意义。

NF- κ B 是一种多极基因调控的转录蛋白,具有广泛的生物学活性,在静息状态下,NF- κ B 多以异二聚体的形式与 I κ B 结合存在于胞质,激活后进入细

胞核发挥转录功能,进而直接或间接调控免疫炎性反应相关的靶基因如细胞因子、趋化因子、协同刺激分子及黏附分子表达,从而出现机体一系列的炎性反应表现,故认为 NF- κ B 信号通路在炎性反应中起到核心作用^[8]。本实验通过检测细胞内 NF- κ B p65 mRNA,细胞核内 NF- κ B p65 mRNA 蛋白的表达,能够一定程度上反应细胞内 NF- κ B 信号通路的激活程度。有研究发现急性期 KD 患儿外周血的单核-吞噬细胞中的 NF- κ B 信号通路处于异常激活状态,并且在发生冠脉损害(CAL)的 KD 患儿中更加显著,提示该信号通路在 KD 的发生上可能起到关键作用^[9]。但由于每个 KD 患儿病程、病情轻重存在差异,患儿外周血单核-吞噬细胞数量少,故实验结果存在一定局限性。Saito 等^[10]运用转基因技术,培育了 E-DNI κ B 模型小鼠,这种小鼠由于内皮细胞中 I κ B α 蛋白不能被降解, NF- κ B 蛋白不能被释放进入细胞核发挥作用,结果发现 E-DNI κ B 模型小鼠在行腹主动脉切开再缝合术后,发生腹主动脉瘤的比例较正常小鼠明显减少,提示 NF- κ B 信号通路参与介导动脉壁细胞外基质的病理性重构,参与动脉瘤的形成,可能对 KD 并发症起到关键作用。

血管内皮细胞是炎症早期效应靶向之一,能分泌多种炎性物质,目前国内外对血管内皮细胞的 NF- κ B 信号通路研究有限,故本实验选取的人脐静脉内皮细胞(HUVEC)为研究细胞,实验中笔者发现在川崎病血清的刺激下,HUVEC 细胞活力显著下降,伴随细胞内 NF- κ B p65 mRNA 表达显著增强,细胞核内 NF- κ B 蛋白合成显著增加,提示 KD 患儿血清中某些物质能促使细胞内的 NF- κ B 信号通路过度激活,并造成细胞自身的损伤。人体中冠状动脉内皮细胞位于血液与血管壁之间,如发生炎性介质过度分泌,不仅造成细胞自身损害,还能引起周围的血管基膜、内弹力膜破坏,最终导致冠脉扩张和冠脉瘤等并发症,故推测与 KD 并发症关系密切^[11]。

尽管 KD 发病机制尚未明确,但标准疗法静脉注射用人免疫球蛋白(IVIG)2g/kg 联合阿司匹林口服方案的有效性已得到公认,使继发 CAL 的发生率从自然病程的 20%~25% 下降至 3%~5%^[12]。IVIG 可从多方面对血管内皮细胞起到保护作用,如封闭血液中单核细胞、血管内皮细胞或血小板表面受体,通过调节炎性细胞功能,抑制炎性细胞黏附,中和病原体或毒素等^[13~15]。本研究中在丙种球蛋白干预下,细胞活力较单纯 KD 血清刺激组显著增强,伴随 HUVEC 细胞内

NF- κ B p65 mRNA 表达和细胞核内 NF- κ B p65 蛋白表达较均有下降趋势,但差异无统计学意义,原因可能由于 IVIG 的作用是多方面的,对该通路的抑制作用效果有限,或由于样本量较少导致的统计误差。但徐明国等^[16]的实验结果显示 IVIG 也能起到对 NF- κ B 信号通路显著抑制的作用,提示 IVIG 抑制细胞 NF- κ B 信号通路过度激活可能也是其药理机制之一。

那么单纯抑制细胞 NF- κ B 信号通路,是否可能对 KD 的治疗有效呢?吡咯烷二硫氨基甲酸酯(PDTC)是一种强氧化剂,能通过抑制单核细胞-吞噬细胞浸润和抑制一氧化氮合酶(iNOS)表达,直接或间接抑制反应性氧中间体(ROIs)的产生等途径抑制 I κ B 蛋白降解,减少 NF- κ B 的核移位,起到对 NF- κ B 信号通路特异性抑制作用^[17]。本实验中在 PDTC 的干预下,HUVEC 细胞活力较单纯 KD 血清刺激组显著增强,伴随细胞内 NF- κ B p65 mRNA 和细胞核内 NF- κ B p65 蛋白的表达均显著下降,提示 PDTC 对抑制 NF- κ B 信号通路的作用效果强于 IVIG,并且对体外培养的内皮细胞也能起到和 IVIG 相近的保护作用。国外的研究还证实,PDTC 还能增强心肌梗死后心肌细胞对缺血再灌注损伤的耐受力,起到保护心肌细胞的作用。推测其有减轻冠脉扩张等并发症的作用,故说明 PDTC 在 KD 的治疗上有潜质的临床价值。但是在本实验中,笔者还发现由于 PDTC 对 NF- κ B 信号通路强力的抑制作用,本实验中 P 组 NF- κ B 蛋白表达水平甚至低于正常组。有实验研究证实,生物体内 NF- κ B 信号通路的作用广泛、调控精细,在炎性反应早期,可能起到保护作用,还对内皮细胞的其他正常生理功能也起重要作用,故只有能做到对 NF- κ B 信号通路的精确调控,特异性的抑制性药物才可能试用于临床^[18]。

综上所述,本研究证明 HUVEC 在 KD 血清刺激下,细胞中 NF- κ B 信号通路被激活,造成细胞自身损害,推测与 KD 的发生、发展密切相关。比较 IVIG 和 PDTC 在体外 HUVEC 的干预效果,证明 PDTC 能通过抑制细胞核内 NF- κ B 蛋白的过度合成,增强 HUVEC 对抗 KD 血清的刺激,起到和 IVIG 相近的保护作用,在 KD 的治疗上有潜在的临床价值。同时应注意到人体内 NF- κ B 信号通路具有十分精细和复杂的调节机制,过度抑制很可能干扰正常生理功能,如何进行适度的抑制需要开展更深入的研究。

参考文献

1 Yellen ES, Gauvreau K, Takahashi M, et al. Performance of 2004 A-

- merican heart association recommendations for treatment of Kawasaki disease [J]. Pediatrics, 2010, 125(2):234-241
- 2 Curtis N. Kawasaki disease and toxic shock syndrome - at last the etiology is clear? [J]. Adv Exp Med Biol, 2004, 549(1):191-200
 - 3 Hayden MS, Ghosh S. NF- κ B in immunobiology [J]. Cell Research, 2011, 21(2):223-244
 - 4 张娟, 徐青. 核转录因子- κ B 与支气管哮喘的研究进展 [J]. 国际免疫学杂志, 2010, 3(33):200-204
 - 5 李治琴, 郑一君, 陈晓微, 等. I κ K- α/β 、I κ B- α mRNA 在系统性红斑狼疮患者外周单个核细胞中的表达及临床意义 [J]. 临床皮肤科杂志, 2010, 39(3):148-150
 - 6 刘勇刚, 李志花, 陈汝福, 等. NF- κ B 特异性抑制剂 PDTC 对人肝门部胆管癌细胞增殖及 SMYD3 表达的影响 [J]. 中山大学学报, 2011, 32(1):22-25
 - 7 Fukazawa R, Ogawa S. Long-term prognosis of patients with Kawasaki disease: at risk for future atherosclerosis? [J]. J Nippon Med Sch, 2009, 76(3):124-133
 - 8 Ghosh S, Karin M. Missing pieces in the NF- κ B puzzle [J]. Cell, 2002, 109(Suppl):S81-S96
 - 9 邹峥, 熊国亮, 段君凯, 等. 急性川崎病外周血单个核细胞核因子- κ B 活化的变化 [J]. 实用儿科临床杂志, 2009, 24(1):35-37
 - 10 Saito T, Hasegawa Y, Ishigaki Y, et al. Importance of endothelial NF- κ B signaling in vascular remodeling and aortic aneurysm formation [J]. Cardiovasc Res, 2013, 97(1):106-114
 - 11 Ashouri N, Takahashi M, Dorey F, et al. Risk factors for nonresponse to therapy in Kawasaki disease [J]. J Pediatr, 2008, 153(3):365-368
 - 12 Newburger JW, Takahashi M, Gerber MA, et al. Diagnosis, Treatment and long-term management of Kawasaki disease: a statement for health professionals from the committee on rheumatic fever, endocarditis, and Kawasaki disease, council on cardiovascular disease in the young, American Heart Association [J]. Pediatrics, 2004, 114(6):1708-1733
 - 13 胡静, 王大为, 王凤鸣, 等. 内皮细胞型一氧化氮合成酶基因多态性与川崎病并冠状动脉损伤易感性的相关性 [J]. 实用儿科临床杂志, 2008, 23(9):663-664
 - 14 Yoshimura K, Tatsumi K, Ihara A, et al. Increased nitric oxide production by neutrophils in early stage of Kawasaki disease [J]. Eur J Pediatr, 2009, 168(9):1037-1041
 - 15 Ichiyama T, Ueno Y, Isumi H, et al. An immunoglobulin agent (IVIG) inhibits NF- κ B activation in cultured endothelial cells of coronary arteries in vitro [J]. Inflamm Res, 2004, 53(6):253-256
 - 16 徐明国, 门丽娜, 祖莹, 等. 人丙种球蛋白和阿司匹林治疗对川崎病儿童循环内皮祖细胞功能的影响 [J]. 中国当代儿科杂志, 2011, 13(12):966-969
 - 17 Luengo-Blanco M, Prando C, Bustamante J, et al. Essential role of nuclear factor- κ B for NADPH oxidase activity in normal and anhidrotic ectodermal dysplasia leukocytes [J]. Blood, 2008, 112(4):1453-1460
 - 18 Hamid T, Gu Y, Ortines RV, et al. Divergent tumor necrosis factor receptor-related remodeling responses in heart failure: Role of nuclear factor- κ B and inflammatory activation [J]. Circulation, 2009, 119(3):1386-1397

(收稿日期:2014-09-28)

(修回日期:2014-10-19)